京都大学	博士（医学）	氏　名	荒牧　陽
論文題目	Lectin-like oxidized LDL receptor-1 (LOX-1) acts as a receptor for remnant-like lipoprotein particles (RLPs) and mediates RLP-induced migration of vascular smooth muscle cells. (LOX-1 はレムナントリポ蛋白の受容体として作用し、レムナントリポ蛋白による血管平滑筋細胞の細胞遊走誘導に関与する。)		

（論文内容の要旨）

糖尿病やメタボリック症候群を有する患者に高率に冠動脈硬化症などの動脈硬化が発症することが知られている。これらの患者における血中脂質代謝異常の特徴はインスリン作用低下に起因する血中レムナントリポ蛋白（RLP）の増加である。現在、血液中に増加した RLP がマクロファージや血管平滑筋細胞など血管細胞に取り込まれて動脈硬化発症の原因になると考えられている。

Lectin-like oxidized LDL receptor-1（LOX-1）は動脈硬化惹起性リポ蛋白である酸化 LDL の受容体としてクローニングされ、動脈硬化を促進させる種々の刺激（TNF-α、HB-EGF など）や、酸化 LDL によって血管内皮細胞、マクロファージおよび血管平滑筋細胞に発現する。またヒトにおいて LOX-1 は初期の動脈硬化病変では血管内皮細胞上に、進展した動脈硬化病変ではマクロファージや血管平滑筋細胞に強く発現していることが確認されており、動脈硬化病変の各ステージにおいて重要な役割を担っていることが示唆されている。

血管平滑筋細胞は血管の中膜を構成する細胞であるが、血管平滑筋細胞の中膜から内皮への遊走および内膜での増殖が動脈硬化発症・進展における２つの重要な現象である。既に RLP が血管平滑筋細胞の増殖を促し、動脈硬化形成に寄与することが報告されているが、RLP が血管平滑筋細胞の遊走を誘導するかは検討されておらず、また血管平滑筋細胞における RLP の受容体も明らかにされていない。

ヒト血漿から単離した RLP で培養血管平滑筋細胞を刺激したところ、LOX-1 の発現が濃度依存性に増強した。また LOX-1 強発現細胞や血管平滑筋細胞が蛍光色素標識 RLP を酸化 LDL と同等に取り込んだこと、RNA 干渉法により血管平滑筋細胞の LOX-1 発現を抑制したところ蛍光色素標識 RLP の取り込みが減少したことより、LOX-1 が血管平滑筋細胞において RLP の受容体として機能し、RLP を取り込むことにより LOX-1 の発現がさらに誘導されることが明らかとなった。また、RLP による血管平滑筋細胞遊走を検討したところ、RLP は濃度依存性に血管平滑筋細胞の遊走を誘導した。RNA 干渉法により LOX-1 の発現が抑制された血管平滑筋細胞ではこの RLP による細胞遊走誘導作用が減弱したことより、RLP による血管平滑筋細胞遊走にも LOX-1 が RLP 受容体として重要な役割を担っていることが示された。

これまでに RLP が EGF 受容体のリン酸化を介して血管平滑筋細胞の増殖を誘導することが報告されていることから、RLP による血管平滑筋細胞の LOX-1 発現増強、細胞遊走誘導作用についても HB-EGF の放出と、EGF 受容体が関与すると予想し、それを検証するとともに EGF 受容体以降の細胞内シグナル伝達経路についても検討した。RLP の添加により EGF 受容体は時間依存性にリン酸化された。HB-EGF 阻害剤、EGF 受容体リン酸化阻害剤、さらに EGF 受容体リン酸化以後の代表的な細胞内シグナル伝達経路である PI3K-Akt、p38MAPK、MEK-ERK 各シグナル伝達経路の阻害剤を添加したところ、RLP による血管平滑筋細胞の LOX-1 発現誘導、細胞遊走はいずれも有意に抑制された。これらの結果より RLP が LOX-1 に結合した結果、HB-EGF の放出、EGF 受容体のリン酸化およびこれに引き続く PI3K-Akt、p38MAPK、MEK-ERK の活性化が RLP による LOX-1 の発現増強、血管平滑筋細胞遊走に中心的な役割を担っていることが明らかになった。

（論文審査の結果の要旨）

糖尿病やメタボリックシンドロームで冠動脈疾患の発症率が有意に高まるが、この原因の一つとして血中レムナントリポ蛋白(RLP)の濃度上昇が想定されている。また、血管平滑筋細胞の血管中膜から内膜への遊走および増殖が動脈硬化の進展に深く関与している。

これまでにRLPが血管平滑筋細胞の増殖を誘導するとの報告がなされているが、血管平滑筋細胞におけるRLP受容体は明らかにされておらず、またRLPが血管平滑筋細胞の遊走を誘導するかどうかについては検討されていない。

申請者は、ヒト血漿から単離したRLPと培養血管平滑筋細胞を用いて、RLPが血管平滑筋細胞においてスカベンジャー受容体である Lectin-like Oxidized LDL Receptor-1(LOX-1)の発現を増強することを示した。さらに、RLPが血管平滑筋細胞の遊走を誘導し、これにLOX-1がRLP受容体として関与していることを明らかにした。

また申請者はHB-EGFの放出や、HB-EGFによるEGF受容体の活性化、およびこれに引き続くPI3K-Akt、p38MAPK、MEK-ERK 各シグナル伝達経路の活性化がRLPによる血管平滑筋細胞でのLOX-1発現増強、細胞遊走に関与していることを示した。

以上の研究は、糖尿病やメタボリックシンドロームにおける動脈硬化症の発症機序の解明に貢献し、心血管イベントの発症予防に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士(医学)の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、平成20年6月30日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要旨公開可能日：　　年　　月　　日　以降